

Pumping 法による膀胱腫瘍の細胞診および 腫瘍細胞染色体の検索

千葉大学医学部泌尿器科学教室（主任：百瀬剛一教授）

長 山 忠 雄
片 海 七 郎

EXFOLIATIVE CYTOLOGY AND CHROMOSOMAL ANALYSIS IN TUMOR OF THE BLADDER BY PUMPING METHOD

Tadao NAGAYAMA and Shichiro KATAUMI

From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Chiba University

(Chairman: Prof. G. Momose, M.D.)

Cytodiagnosis has been accepted as one of the diagnostic measures of bladder tumor for many years. Its clinical value, however, has not been so highly esteemed in urology as compared with other fields, probably because of easy endoscopy and transurethral biopsy, and obscure criteria of malignancy in transitional cells. Cytological examination is valuable and even necessary for screening of industrial bladder cancers, early diagnosis, follow-up after treatment, diagnosis of carcinoma in situ or cases in which cystoscopy is contraindicated. Cytological examinations were performed as follows. After catheterization with Nélaton's catheter, pumping irrigation was done. Irrigated solution was then spun, and the sediment was smeared, dried, and stained by May-Giemsa's method. Several cases were demonstrated.

Case No. 1: Six weeks prior to the first cystoscopic diagnosis, cytological examination was already positive.

Case No. 2: This was a follow-up case after TUR for bladder tumor. Cytological examination became positive but it was impossible to establish diagnosis by cystoscopy only. Biopsy revealed carcinoma in situ and infiltrating cancer.

Case No. 3: Cystoscopically the findings were those of cystitis, but cytological examination revealed neoplasm of high malignancy.

Chromosome analysis of the exfoliated tumor cells obtained by pumping method was performed in a few cases. If chromosome study could be routinely made associated with cytological examination, malignancy of the tumor would be more clearly decided and provide with a helpful information as to treatment and prognosis. Then, the value of cytodiagnosis would be increased.

は じ め に

膀胱腫瘍診断の一方法としての細胞診は、かなり古くからおこなわれており、Sanders (1864) がはじめて報告して以来、多くの追試がなされている。しかし、泌尿器科領域では、内視鏡検査および経尿道的に腫瘍の試験切除が

容易に可能なこと、また、腫瘍がおもに移行上皮細胞という特殊性のために膀胱腫瘍の細胞診の判定基準が明確に確立されていないことなどの理由により、子宮癌、胃癌、肝癌などの他領域の細胞診に比べると、その関心の程度は非常に低い現状である。

たしかに膀胱腫瘍の診断法としては、膀胱鏡検査が最もすぐれているが、職業性膀胱癌の screening, 腫瘍の早期診断, 膀胱鏡検査の不能または困難な症例の診断, 治療後の follow-up, さらには膀胱鏡的に腫瘍と診断することが困難な症例, 例えば carcinoma in situ などに対しては, 細胞診は最も有力, 不可欠な診断法と考える。しかし, 細胞診のみで腫瘍診断をしようとするのは誤りであり, その確診はあくまで膀胱鏡検査, レ線検査, 生検所見などとの総合的観点よりなされなければならないことはいうまでもない。したがって, われわれも細胞診の目的を, いわば screening test と考えており, 確定診断は膀胱鏡検査, 生検所見に基づいてなされるべきものと考えている。ここにわれわれのおこなっている細胞診の手技を述べるとともに, これによって診断のできた各種膀胱腫瘍症例の代表例を紹介し, あわせて pumping 法による膀胱腫瘍染色体の検査法にも言及し, 細胞診の診断的価値について若干の考察を加える。

腫瘍細胞の検査法

No. 12~13 のネラトン氏カテーテル(多孔とする)を尿道より膀胱内に挿入し, 滅菌水でじゅうぶんに膀胱洗浄をしたのち, 100~150 ml の生理食塩水を膀胱内に注入する。つぎに浣腸器により, そのピストンを強く押し, また, 引く操作を10回程度くり返して, いわゆる pumping 洗浄をおこなう。ここで洗浄液を回収し, 2,000~3,000 rpm で5分間遠沈し, その上澄をすてる。ついで沈渣と約 0.5 ml の生食とを混合し, これを先細のコマゴメピペットで吸引し5枚のスライドグラス上に滴下, 適当にのばして乾燥させる。これを May-Giemsa 法にて固定染色をおこなう。ちなみに判定基準は稲田¹⁾らが報告した分類に基づいておこなった。

Pumping 法による染色体検査法

膀胱鏡で腫瘍の位置をじゅうぶんに確認したのち, 膀胱内に No. 12~13 の2孔ネラトン氏カテーテルを挿入する。このさいできるだけネラトン氏カテーテルの孔を腫瘍の方向にむけるように挿入することが望ましい。あらかじめ滅菌水でじゅうぶんに膀胱洗浄ののち, pumping 洗浄をおこなう。ついで洗浄液を回収,

そのまま 30~40 分間室温に放置して水処理を施行する。その後, 2,000 rpm, 5分間遠沈し, その沈渣をじゅうぶん脱脂したスライドグラスの上に少量滴下し, ホフマンヴァイオレットにて2~3分間染色ののち, カパーグラスを空気のはいらないようにのせ, ろ紙の間にはさみ, おしつぶし法を施行する。つぎにパラフィンバルサム (パラフィン 1/2 + バルサム 1/2) にて封入して検鏡する。その後良好な核板を写真撮影して検索する。

つぎに如上の検査法を実施したいくつかの膀胱腫瘍症例を供覧する。

症 例

No. 1. M. K. 38才, 男子。

左尿管口上方に母指頭大の有茎性乳頭状腫瘍があり, 1967年3月膀胱部分摘除術施行。組織診断は移行上皮癌1度であった。1968年5月再発のため, 粘膜剝離術を施行した。術後約6カ月目の follow-up 時に細胞診で Fig. 1 のごとき Class III の細胞が認められたが, 膀胱鏡的には腫瘍が確認できなかった。その後6週目の膀胱鏡検査で, はじめて膀胱頂部付近にキノコの群生を思わせるような小さな多発腫瘍を確認した (Fig. 2)。細胞診が膀胱鏡検査に先行し, 腫瘍の発生を疑診せしめた症例のひとつである。

No. 2. T. K. 68才, 男子。

右側壁に示指頭大, 境界わりあい明瞭な広基性乳頭状腫瘍があり, 1968年2月 TUR-Bt 施行以後, 自覚症状は全くなく経過していた。1970年5月の follow-up 時の細胞診で Class IV の細胞 (Fig. 3) が検出されたが, 膀胱鏡的にもレ線的にも腫瘍の存在が確認できなかった。膀胱鏡的に粘膜のやや浮腫状混濁している部分を数カ所, 試験切除してみると, その1カ所に粘膜内癌 (Fig. 4) が認められ, 深部にも癌細胞の小集団 (Fig. 5) が存在しており, 明らかに浸潤癌であった。大動脈瘤合併のため, 根治手術が不能であり, 抗癌剤を全身投与して経過を観察しているが, 診断確定よりほぼ1年後, 膀胱鏡的には非乳頭状広基性浮腫状腫瘍が認められた。膀胱鏡的に腫瘍診断が不能な再発腫瘍に細胞診で疑診し, 試験切除で確診した症例のひとつである。

No. 3. S. S. 40才, 男子。

1969年6月以来, 結核性膀胱炎の診断で某病院において三者併用療法を受けていた。この間, 膀胱鏡的に膀胱粘膜は浮腫状混濁, 一部に粘膜下出血のあるいわば慢性炎症の所見を呈するのみで, 明らかな腫瘍は認められず, また, 尿結核菌培養は陰性であった。1970

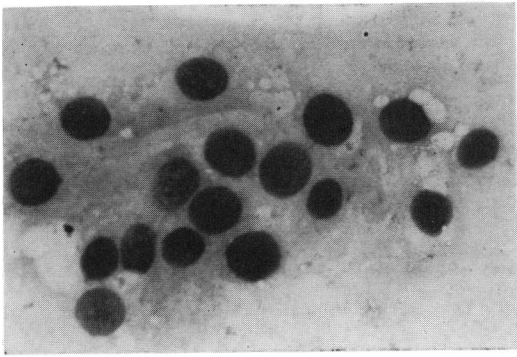


Fig. 1. Case No. 1.

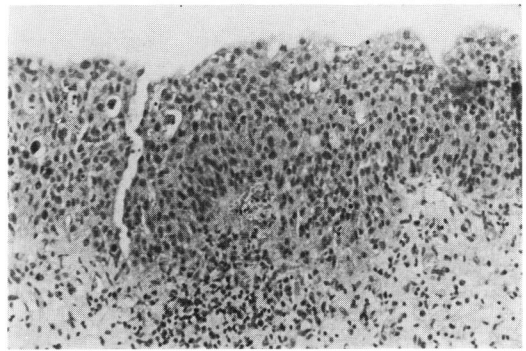


Fig. 4. Case No. 2.

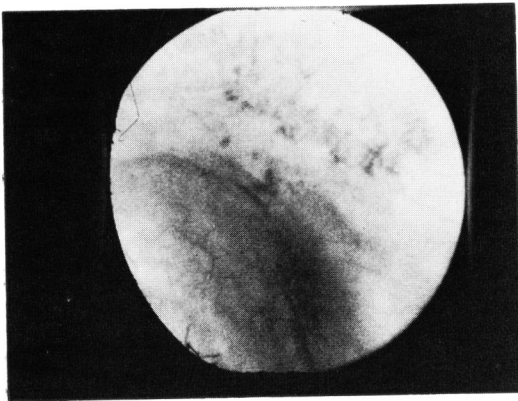


Fig. 2. Case No. 1.

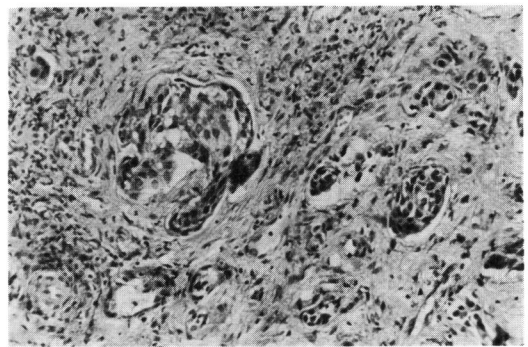


Fig. 5. Case No. 2.

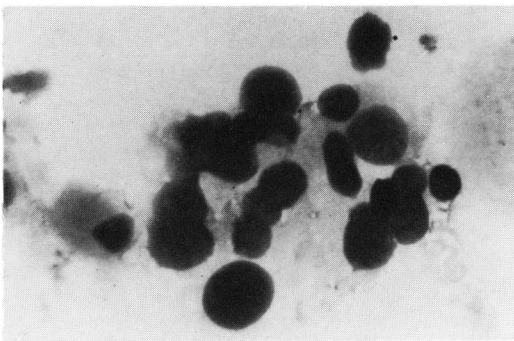


Fig. 3. Case No. 2.

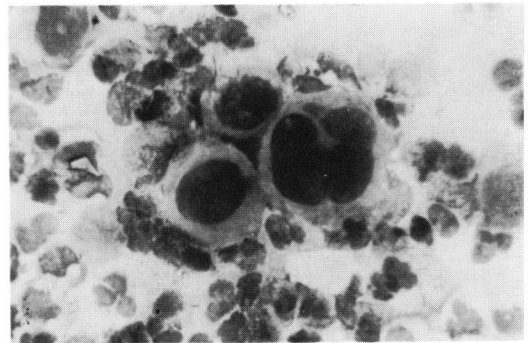


Fig. 6. Case No. 3.

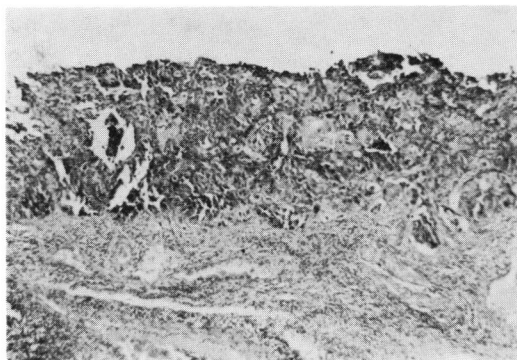


Fig. 7. Case No. 3.

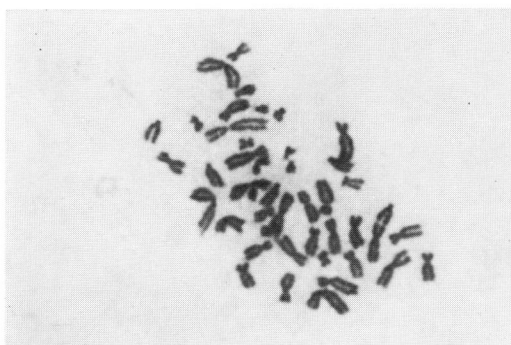


Fig. 10. Case No. 4.

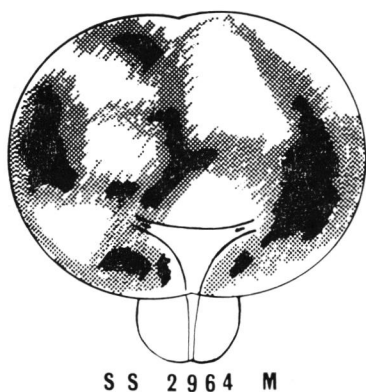


Fig. 8. Case No. 3.

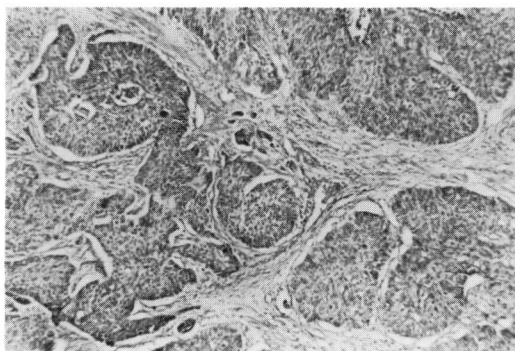


Fig. 11. Case No. 5.

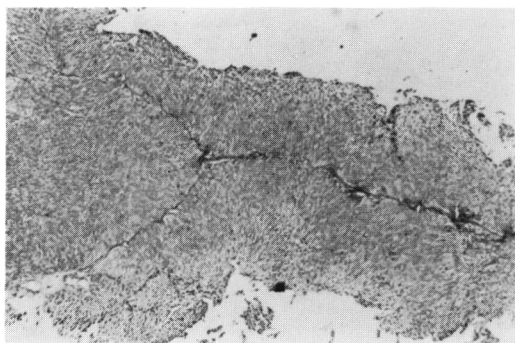


Fig. 9. Case No. 4.

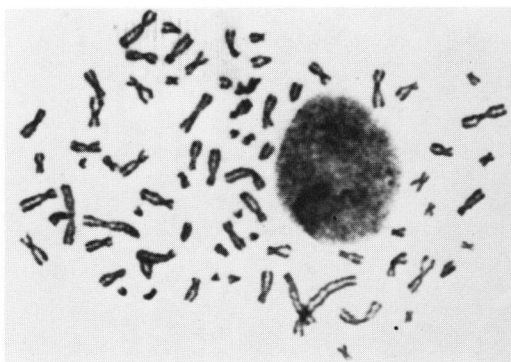


Fig. 12. Case No. 5.

年2月の細胞診で多数の変性した白血球に混じって Class IV の癌細胞 (Fig. 6) を検出し、さらに生検によって移行上皮癌4度と診断しえた。染色体検査により、染色体数は高4倍性さらに異常染色体を認めたため膀胱全摘除術を施行した。摘除標本の膀胱粘膜表面はほぼ平滑で、肉眼的には腫瘍は認められなかった。これに全域標本を作成し検索すると、粘膜下のほぼ全域にわたって円形細胞の浸潤が著しく、また、粘膜のかかなりの部分が粘膜内癌 (Fig. 7) であり、一部には浸潤も認められた。しかし、その浸潤はわりあい浅く、せいぜいA～B程度であるが、癌細胞のリンパ管内および血管内侵入が認められた。Fig. 8 は全域標本による腫瘍存在分布図であり、点の部分は粘膜内癌、黒の部分は浸潤部位を現わしている。本例は膀胱鏡的には膀胱炎の所見のみで腫瘍診断が困難であり、細胞診によって診断のできた悪性度の高い腫瘍症例のひとつである。

染色体検索例

先掲の pumping 法により染色体を検索しえた良性および悪性膀胱腫瘍症例のうち1例ずつを供覧する。

No. 4. K. R. 60才, 女子。

右尿管口上方に母指頭大、有茎性乳頭状腫瘍があり、組織学的には移行上皮癌1度であった (Fig. 9)。1970年6月、この腫瘍に対し経尿道的凍結術を施行した。1971年3月、ふたたび血尿を主訴として来院。膀胱鏡的には大小多数の腫瘍が認められた。この症例に対し染色体検査をしたところ、染色体数のモードは46であり、とくに異常染色体は認められなかった (Fig. 10)。大動脈瘤および糖尿病のため、根治手術は不可能であり、6回の経尿道時凍結術を施行し腫瘍は消失した。

No. 5. O. N. 69才, 女子。

左尿管口上方に境界わりあい鮮明な母指頭大の広基性一部乳頭状の腫瘍があり、1968年3月、膀胱部分摘除術を施行した。組織診断は移行上皮癌3度であった。1970年4月再発。膀胱後壁の左側に示指頭大の広基性非乳頭状出血性腫瘍を認めたため、ふたたび膀胱部分摘除術を施行した。組織診断は移行上皮癌4度であった (Fig. 11)。染色体は Fig. 12 のようにモードは高3倍性であり、異常染色体も認められた。術後は放射線照射を施行したが、1971年4月、再発のため死亡した。

考 察

膀胱腫瘍の細胞診については多くの報告がなされて

いるが、それらをみると、その臨床的評価は種々さまざまであり、その診断率にもかなりの開きがある。その原因は、膀胱腫瘍には内視鏡が容易に施行できることもあろうが、一方、膀胱粘膜の剥離細胞は非腫瘍性病変によってもその形態が非常に多様化するため、腫瘍細胞の形態学的特徴がつかみにくく、したがってその判定基準もはっきりと確立されていないことにもよる。また、膀胱腫瘍はしばしば腫瘍性膀胱炎や感染性炎症を併発している場合が少なくなく、詳細な観察をおこないうる新鮮な細胞を多数得ることが困難な場合が多いこともその一つの原因である。しかし前述したように細胞診は一種の screening test であり、確定診断は細胞診のみによるのではなく、あくまで膀胱鏡検査、生検、レ線検査などによる総合的判定によりなされなければならないと考える。当然のことながら、細胞診は false negative をできるだけ少なくするような方法を用いるべきである。腫瘍剥離細胞を多数に採取する方法に関しては、早期自然排出尿の利用²⁾、カテーテル尿の利用³⁾、silicon 液の利用⁴⁾、millipore filter の利用⁵⁾、 α -chymotrypsin 洗浄法⁶⁾などがおこなわれているが、膀胱鏡検査を実施することなどを考慮し、生食 pumping 法が適当であると考え。すなわち、多孔ネラトン氏カテーテルを膀胱へ挿入し、浣腸器で圧をかけて洗浄する本法により、膀胱鏡的に腫瘍の確認できた症例は全例に異常細胞を検出できた。さらに症例紹介に示したように、膀胱鏡的には腫瘍が確認できない粘膜内変化のものでも異常細胞を検出することが可能であり、われわれの経験からすれば、この方法は α -chymotrypsin 洗浄法に決しておとるものではなかった。

採取細胞の処理方法は、乾燥法、噴霧湿固定乾燥法、エーテルアルコールによる湿固定法、卵白グリセリンを塗布する方法などがあるが、柴田⁹⁾、田嶋⁷⁾も報告しているように、細胞保持に関しては乾燥法が最もすぐれている。われわれのおこなっている乾燥法は、沈渣を約 0.5 ml の生食に混じ、これをスライドガラス5枚にのぼすため、1枚に滴下される量は約 0.1 ml とかなりの量になっている。したがって乾燥までには少々時間を要するために核クロマチンは粗大凝集する傾向があるようである。また、May-Giemsa 染色法は核の染色性がよく、overdiagnosis の傾向になるが、先に述べたごとく screening で false negative をできるだけ少なくする意味からは最も適した染色法であるといえよう。

腫瘍細胞の判定基準は Papanicolaou⁸⁾の基準が一般に用いられているが、screening としての価値からい

えば、境界領域の Class III も陽性とする 稲田¹⁾らの分類が適当であろう。もっとも、乾燥後 May-Giemsa 法による固定染色では微細構造が不明なことが多く、hyperchromatic に染まりやすいため over-diagnosis の傾向になりがちであり、Papanicolaou の 5 段階の分類を適用することは不適当のように思われる。

膀胱腫瘍の診断は、おもに膀胱鏡検査にたよっていることが多いが、症例によっては細胞診にたよらなければ診断が不可能に近いものもあり、これらに対する細胞診の価値は非常に高い。既知のごとく膀胱腫瘍は再発することが多く、治療後の follow-up は欠かせないものである。従来、その手段はおもに膀胱鏡検査に依存してきた。しかし、症例に示したように、膀胱鏡検査で腫瘍が確認できるかなり以前から細胞診が陽性である場合もあり、この点では細胞診は膀胱鏡検査にまさるものといえる。Allegra ら⁹⁾も膀胱鏡的に腫瘍が確認できる 12~33 カ月も以前に、細胞診で診断が可能なものもあると述べている。したがって、follow-up のさいは必ず細胞診を併用し、細胞診陽性例はたとえ膀胱鏡的に異常が認められなくとも、じゅうぶんな経過観察をする必要がある。落合ら¹⁰⁾も膀胱腫瘍治療後の follow-up で、膀胱鏡的に腫瘍が確認できる数カ月前にすでに細胞診が陽性であった症例を報告している。自験細胞診例の No. 2 は、再発浸潤癌と思われるものであり、また、その一部は膀胱鏡的には腫瘍診断の全く困難な粘膜内癌である。carcinoma in situ は膀胱鏡的に膀胱炎様所見を呈することが多く¹¹⁾、確診は困難であり、その診断は細胞診、生検にたよらざるを得ないものである。すなわち、膀胱鏡的に腫瘍を認めない細胞診陽性例は一方では carcinoma in situ の可能性があり、経過観察も必要であるが、積極的に生検をすることにより早期に診断をすることがのでましい。しかし、実際には膀胱粘膜にほとんど異常がない場合が多く、試験切除部位の決定には問題がある。自験例は粘膜がやや混濁していると思われる部位の 3 カ所を生検し、その 1 カ所に carcinoma in situ および浸潤癌を認めたものである。

膀胱腫瘍が進展すると、そのかなりのものが症状の著しい難治性膀胱炎様症状を呈することがある。これらは細菌感染による場合もあり、また、いわゆる腫瘍性膀胱炎のこともあろう。しかし、最初から膀胱鏡的に膀胱炎所見のみを呈する浸潤癌のあることは注目に価する。松田ら¹²⁾は慢性膀胱炎として長期間治療されてきた細胞診陽性例の 2 例に試験切除をおこない癌を確認した。落合、稲田も細胞診で Class IV の診断を

しえたが、膀胱鏡的には慢性膀胱炎のみで腫瘍の存在を確認できなかった症例に、2 年半後腫瘍の発生を認め、生検で移行上皮癌の診断をしている。また、Smith ら¹³⁾は慢性膀胱炎として長期間治療されていた膀胱癌症例の 12 例を、また、森ら¹⁴⁾も慢性膀胱炎と鑑別困難であった 3 例を報告している。自験細胞診例 No. 3 に示したように、これらの症例はすべて慢性膀胱炎あるいは結核性膀胱炎の診断で長期間治療を受けていたものである。これら症例のうち尿結核菌培養検査をしたものはすべて陰性であった。膀胱鏡的に腫瘍診断の全く不可能なこれらの症例に対しては、細胞診の価値はきわめて高いといえよう。

つぎに、固形腫瘍の染色体検索は、従来比較的困難なものとされていた。膀胱腫瘍に関しては、まだその報告は少ない¹⁵⁻¹⁸⁾。われわれは前述したような簡単な方法¹⁹⁾により容易にその検索が可能であることを知った。自験例に示すように、本法では karyotype の検索がじゅうぶんに起こないような標本の作成が可能である。われわれは、細胞の性質が染色体によって伝達されるならば、膀胱腫瘍細胞の染色体を検索することにより腫瘍の悪性度をかなり正確に知ることが可能であろうと想定し、この研究をおこなっているものである。ヒトにおける悪性腫瘍の染色体の研究は牧野、石原らによって癌性胸腹水をはじめ、固形腫瘍、腫瘍の培養細胞などについて詳細に検討されているが、われわれはこの染色体検査を、いわゆる細胞診に導入することができれば、細胞の悪性度がさらに正確に把握でき、治療方針の決定や予後のより正確な判定なども可能となり、細胞診の価値は今までよりもさらに向上するものと考ええる。

結 語

以上、pumping 法による膀胱腫瘍の細胞診および染色体の検索について症例に基づいてのべたが、膀胱腫瘍の診断にさいしては、膀胱鏡的診断の困難なまたは不能な症例もあるため、膀胱鏡検査に細胞診を併用することが必要である。また、このような症例には、積極的な生検とじゅうぶんな経過観察が必要である。さらに膀胱鏡的に腫瘍が確認できる症例に対しては、pumping 法により染色体を検索すれば、細胞診の診断的価値は著しく向上するであろう。われわれは膀胱腫瘍の診断における細胞診の価値を再認識する必要があると考える。

(本論文の要旨は第12回日本臨床細胞学会総会において発表した。ご指導、ご校閲くださった恩師百瀬剛一教授に深く感謝いたします。)

文 献

- 1) 稲田俊雄：日泌尿会誌，**58**：156，1967.
- 2) Chute, R. and Williams, D. W. : J. Urol., **59**：604，1948.
- 3) Powder, J. R. and Young, J. D. : J. Urol., **84**：666，1960.
- 4) McCrea, L. E. : J. Urol., **85**：1006，1961.
- 5) Slate, T. A., Merritt, J. W., Handerson, W. B. and Feeney, M. J. : J. Urol., **89**：925，1963.
- 6) 柴田偉雄：日臨細胞会誌，**6**：40，1967.
- 7) 田嶋基男：細胞診特論，P.225，中山書店，東京，1970.
- 8) Papanicolaou, G. N. : J. Urol., **57**：375，1947.
- 9) Allegra, S. R., Fauning, J. R., Streker, J. F. and Corvese, N. M. : Acta Cytol., **10**：340，1966.
- 10) 落合京一郎・稲田俊雄・山田 喬：日臨細胞会誌，**5**：50，1966.
- 11) Yates-Bell, A. J. : Brit. J. Surg., **58**：359，1971.
- 12) 松田 実・杉野満子・多田紀美子・伊藤素二：日臨細胞会誌，**3**：43，1964.
- 13) Smith, J. C. and Badenoch, A. W. : Brit. J. Urol., **37**：93，1965.
- 14) 森 義則・中村麻瑳男・加野資典・伊藤素二：日泌尿会誌，**62**：656，1971.
- 15) 重松 俊：日泌尿会誌，**55**：734，1964.
- 16) 嶺井定一：泌尿紀要，**11**：1085，1965.
- 17) Lamb, D. : Brit. Med. J., **1**：273，1967.
- 18) William, H. F. : JAMA., **16**：791，1971.
- 19) 長山忠雄：医学のあゆみ，**75**：488，1970.

(1971年9月27日受付)